Morphologie, Teilung und Hungerformen von *Keronopsis*

Mit 15 Abbildungen im Text

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Philosophischen Fakultät der
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Traud Rühmekorf
aus Lübeck

Tag der Promotion: 11. Dezember 1935
Tag der mündlichen Prüfung: 19. Juli 1934

1935

494

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544314_0067

Morphologie, Teilung und Hungerformen von *Keronopsis*

Mit 15 Abbildungen im Text

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Philosophischen Fakultät der
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Traud Rühmekorf
aus Lübeck

Tag der Promotion: 11. Dezember 1935
Tag der mündlichen Prüfung: 19. Juli 1934

1935

Referenten: Prof. Dr. M. Hartmann

Prof. Dr. R. Hesse

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus dem
Archiv für Protistenkunde
Bd. 85 1935
Herausgegeben von M. Hartmann in Berlin-Dahlem und A. Pascher in Prag
Verlag von Gustav Fischer, Jena

Lippert & Co. G.m.b.H., Naumburg (Saale)
Printed in Germany

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Einleitung 255
II. Material und Methoden 257
1. Kurze Angabe über die Arten 257
2. Kulturmethoden 258
3. Präparate. 259
III. Morphologie 260
1. Äußere Morphologie 260
2. Kernverhältnisse 263
3. Teilung 266
a) Äußere Erscheinung der Teilung 266
b) Kernverhältnisse bei der Teilung 267
IV. Versuche über die Teilungsrate 271
Anhang: Modifikation bei *Keronopsis flava* 277
V. Versuche zur Auslösung der Konjugation 277
VI. Hungertiere bei *Keronopsis flava* 279
Zusammenfassung 286
Literaturverzeichnis 287

I. Einleitung.

Untersuchungen über den Formwechsel der Protozoen, besonders der Infusorien, nehmen in der Literatur einen breiten Raum ein. Der weitaus größte Teil dieser Arbeiten berücksichtigt aber in

keiner Weise die Ursachen, die diesen Formwechsel bedingen. So liegen eindeutige Ergebnisse über das Zustandekommen der Konjugation der Ciliaten heute noch nicht vor, weil die Außenbedingungen besonders in bezug auf Kulturlösung und Futter nicht konstant gehalten wurden und so eine auch nur annähernde Prüfung unmöglich war.

Zweck der vorliegenden Arbeit ist es also, im Sinne der Arbeiten von M. HARTMANN an *Eudorina*, K. BĚLAŘ an *Actinophrys sol*, G. WEYER an *Gastrostyla Steinii* und C. D. BEERS an *Didinium nasutum*, zu untersuchen:

1. das Verhalten des Ciliats unter möglichst konstanten Außenbedingungen in bezug auf Nährlösung, Futter und Temperatur;

2. festzustellen, ob unter diesen Bedingungen neben der vegetativen Vermehrung durch Zweiteilung Konjugation, Endomixis oder Encystierungsvorgänge auftreten, und ob diese mit Depressionen der Kulturen verbunden sind;

3. diese Vorgänge experimentell zu erzeugen und ihre Ursachen festzulegen;

4. die Cytologie des Infusors während des Formwechsels festzulegen.

Derartige Untersuchungen fehlen über marine Infusorien vollkommen. Für die zu untersuchenden Arten ist dann weiter interessant, daß sie eine große Anzahl Macronuclei besitzen, die schollig durch das ganze Tier verteilt sind. Angaben über solche Formen fehlen in der Literatur ebenfalls fast vollkommen. Abgesehen von rein systematischen Beobachtungen finden sich bei MAUPAS (1889) und GRUBER (1884) kurze Feststellungen über die vegetative Teilung einiger solcher Arten. Sehr zweifelhafte Beobachtungen über unkonstante Verhältnisse in der Anzahl der Ma finden sich in Arbeiten über *Loxodes rostrum* (H. JOSEPH, 1907) und *Trachelocerca phoenicopterus* (W. LEBEDEW, 1909), neben Beobachtungen über die Konjugation.

Bei weitem am besten und häufigsten bearbeitet ist *Dileptus gigas* mit kurzen Angaben von R. HERTWIG (1904), in neuerer Zeit folgen dann ausführliche Untersuchungen von I. P. VISSCHER (1927) über Konjugation und das Verhalten der Ma, und morphologische Untersuchungen von A. N. STUDITSKY (1930). Bei beiden fehlt aber die Kultur des Objekts unter konstanten Außenbedingungen.

Eine frühere Arbeit von ALLESCHER (1912) beschäftigt sich mit dem Verhalten der Hungerformen bei *Dileptus gigas*, wie sie in ähnlicher Form auch bei der einen hier untersuchten Art auftreten.

Da in marinen Schlammproben, die zu anderen Zwecken im Institut untersucht wurden, eine reiche Entwicklung der in Frage stehenden Ciliaten auftrat, schien es möglich, den Fragen des Formwechsels auch einmal bei marinen Infusorien nachzugehen. Herrn Prof. Hartmann danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die Verfügungstellung des Materials.

II. Material und Methoden.

1. Kurze Angabe über die Arten.

Im Sommer 1932 traten in den aus Plymouth stammenden Schlammproben hypotriche Infusorien der Gattung *Holosticha* auf. Bestimmt wurde diese Art als eine der Form *flava* von *Keronopsis* nahestehende Art.

Ein Jahr später, im Sommer 1933, konnte ich in frischen Schlammproben von Helgoland und auch aus Plymouth eine weitere *Holosticha*-Art isolieren, die der vorigen zwar nahe verwandt ist, sich aber morphologisch und cytologisch, ganz besonders aber physiologisch sehr deutlich von der vorigen Art unterscheidet. Auch diese Form ließ sich nach einigen Bemühungen gut kultivieren und wurde in den Kreis der Untersuchungen einbezogen. Nach Mitteilung von Herrn A. Kahl [1]) ist sie eine der *Keronopsis flava* nahe verwandte, aber deutlich ausgeprägte selbständige Form, die der Gruppe *rubra—flava—flavicans* zuzurechnen, vielleicht mit der *Keronopsis flavicans* identisch ist.

Es handelt sich dabei um die Form, die 1884 von Entz als *Holosticha flavorubra* „mit zwei Kernen und mehreren Nebenkernen" beschrieben ist. Später änderte dann Gruber den Namen in *Holosticha flava* und schreibt der Form eine größere Anzahl Ma zu. Schon Gruber gibt an, daß die *Holosticha flava* einige Var. annimmt, neben der sehr ähnliche, aber deutlich trennbare Formen vorkommen, wie es bei den beiden untersuchten der Fall ist. Er unterscheidet dabei eine braune Form, die breiter ist als die orangerote *Holosticha flavorubra* von Entz; das Vorderende ist umfangreicher und das Hinterende weniger spitz zulaufend, dabei ist der Körper weniger geschmeidig. Diese Beschreibung paßt auf die untersuchte Form *flavicans*. Es ist anzunehmen, daß diese Form weiter verbreitet ist als die *flava*, denn sie trat in verschiedenen Schlammproben gelegentlich wieder auf, während ich die *flava* nicht wiederbekommen konnte.

[1]) Herrn Kahl danke ich für seine freundlichen Bemühungen.

2. Kulturmethoden.

In Reinkulturen wurden die Tiere übergeführt, indem die ursprüngliche Rohkultur nach und nach durch Erdschreiber ersetzt wurde, weil beide Arten die direkte Übertragung nicht vertrugen. In den nächsten Wochen wurden Klone angelegt und in der ersten Zeit sowohl mit diesen als auch mit Massenkulturen, später aber nur noch mit Klonen gearbeitet. Da sich Nordsee-Erdschreiber als bestes Medium für *Keronopsis* erwies, wurden alle fortlaufenden Kulturen in dieser Lösung gezüchtet und andere Medien nur vorübergehend im Versuch gebraucht. Als Futter erwies sich die im Institut dauernd gezüchtete *Dunaliella*-Art als sehr geeignet. Eine andere marine Chlamydomonade wurde wohl aufgenommen, schädigte aber die Tiere bis zum Absterben. Futterversuche mit Diatomeen, farblosen Flagellaten und anderen gelegentlich in Seewasser-Rohkulturen auftretenden kleineren Organismen waren ganz erfolglos, da sie überhaupt nicht gefressen wurden. Dagegen ernähren sich die *Keronopsis* sicher gelegentlich von bestimmten Bakterien, wenn solche in älteren Lösungen vorhanden sind, ohne daß Schäden auftreten, während andere Bakterien Depressionserscheinungen auslösen. Versuche, verwendbare Bakterien als Reinkulturen zu züchten, sind aber nicht in genügendem Ausmaß gemacht.

Die *Dunaliella* wurden in größeren Kolben im Winter an der künstlichen Sonne, im Sommer an einem Nordfenster gezüchtet. Vor dem Verfüttern wurden die gut gewachsenen Kulturen in BOVERI-Schalen verteilt und nach einiger Zeit die am positiven Lichtrand angesammelten Algen mit einer spitzen Pipette abgesaugt, einmal in frischer Erdschreiberlösung gewaschen und dann den *Keronopsis*-kulturen zugesetzt. Auf diese Weise wurde erreicht, daß die eigentliche Kulturlösung durch unkontrollierbare Bakterienmengen möglichst wenig verunreinigt wurde.

Von den in Massenkulturen geführten Klonen wurden alle 7 Tage neue Kulturen angelegt, und zwar wurden jeweils ca. 100 Tiere in die frische Kulturlösung gebracht. Die Kulturen wurden alle 1—2 Tage nachgesehen und bei Bedarf nachgefüttert. Eine häufigere Kontrolle war bei der verhältnismäßig sehr langsamen Vermehrung dieser Arten zwecklos. Verwendet wurden für die Kulturen nur BOVERI-Schalen aus Jenenser Glas, und zwar für die Massenkulturen größere, für die Zählkulturen kleine, in denen sich die einzelnen Tiere besser wiederfinden ließen. Alle benutzten Glasgeräte wurden vor dem Gebrauch mit Chromschwefelsäure gereinigt, mit Leitungswasser gespült und in destilliertem Wasser ausgekocht.

Das als Kulturlösung verwendete Nordseewasser stammte von Helgoland, wurde vor Gebrauch sterilisiert und mit Erdlösung und Schreibersalzen versetzt. Etwaige Schwankungen, die durch den schwach wechselnden Salzgehalt und p_H solcher natürlichen Lösungen bedingt sind, hatten auf die Kulturen keinerlei Einfluß, wie sich durch die Teilungsratenversuche nachweisen läßt. Im übrigen lassen sich für die Züchtung der *Keronopsis* auch synthetische Medien ohne weiteres verwenden, wie z. B. die Herbst'sche Seewasserlösung; sie sind aber weniger günstig, weil sich in ihnen das grüne Futter nicht mehr vermehrt, vielleicht sogar geschädigt wird.

Die im Versuch stehenden Kulturen wurden im Arbeitszimmer auf einem vom Fenster entfernten Tisch bei 20—21° gehalten; da es sich um ein Nordzimmer handelte, war die Temperatur verhältnismäßig konstant. Von den Fensterbrettern, auf denen sie zuerst standen, mußten die Kulturen bald entfernt werden, weil es sich herausstellte, daß die Tiere auf Kälteeinwirkung sehr fein reagieren und daher Schwankungen in der Teilungsrate je nach dem Wetter und der Verteilung der Schalen auf dem Brett eintraten.

Weiter wurde bald festgestellt, daß beide *Keronopsis*-Arten negativ phototaktisch reagieren, denn die Tiere sammeln sich stets bald nach dem Übertragen an der vom Licht abgekehrten Schalenseite an, also gegenüber vom grünen Futterrand. Dreht man die Schale um, so ist auch nach einigen Stunden die Verteilung von Futter und Tieren umgekehrt. Stellt man dagegen die Kulturen in einen das Licht abschließenden Kasten, so verteilen sie sich, wie auch die Algen, gleichmäßig durch die ganze Schale.

Diese negative Phototaxis hängt wahrscheinlich zusammen mit dem Vorhandensein der Chromocysten, die sich, wie später zu besprechen sein wird, bei bestimmten Außenbedingungen ganz oder teilweise entfernen lassen. In diesem Zustand bleibt die Lichtreaktion aus. Da aber in einem Vergleichsversuch zwischen normal belichteten und dunkel gehaltenen Kulturen sich herausstellte, daß das Licht auf die Teilungsrate der Tiere keinen Einfluß hat, wurde in den Versuchen darauf keine Rücksicht genommen und die Kulturen im Licht gehalten.

3. Präparate.

Zum Fixieren und Färben des Materials wurden folgende Methoden angewendet: Bei genügend reichlichem Material wurden Totalpräparate stets in der Zentrifuge fixiert, gefärbt, weiterbehandelt bis zum Xylol und erst dann auf den Objektträger in Kanadabalsam

übertragen. Der Versuch, das Material im hängenden Tropfen mit OsO_4 abzutöten, dann mit Hühnereiweiß oder Äthercelloidin aufzukleben und erst jetzt weiterzufixieren und zu färben, gelang zwar auch, es ging aber dabei wesentlich mehr Material verloren als bei der Zentrifugenmethode.

Zum Fixieren der Totalpräparate eignete sich am besten das Gemisch nach Bouin-Dubosq. Die Schrumpfung betrug dabei etwa 33 Proz., ließ sich aber auch bei anderen Fixierungsmitteln nicht vermeiden. Gefärbt wurde mit Mayer's Hämatoxylin verdünnt auf 1 Proz. über Nacht; auch Anthrazenblau gab gute Resultate. Beide Färbungen haben den Vorteil, daß eine Differenzierung nicht nötig ist und die Kernbilder trotzdem einwandfrei klar erkennbar sind.

Zur Prüfung der Feinstrukturen der Ma und Mi wurde das Material auch mit Flemming'scher Lösung ebenfalls in der Zentrifuge fixiert und so bis zum Paraffin gebracht, dann das Material in viereckige Röhrchen eingebettet und 5—10 μ geschnitten. Diese Schnittpräparate wurden zum größten Teil nach Feulgen gefärbt. Eisenhämatoxylin erwies sich als weniger geeignet, weil sich das Material schlecht differenzierte und durch den verteilten Ma und die aufgenommenen Futtermengen sehr unübersichtlich wurde.

Zur Darstellung der Cilien wurden Karbolfuchsin und die Gelei-Färbung (nach vorheriger Fixierung mit Flemming's Gemisch) angewendet, beide gaben gute Resultate.

III. Morphologie.

1. Äußere Morphologie.

Größe: Die Länge der *Keronopsis flava* beträgt 230—250 μ, die Breite 40—50 μ, je nachdem ob es sich um ein vor der Teilung stehendes oder frisch geteiltes Tier handelt. Die Höhe ist gering, ca. 20 μ, so daß die Tiere etwa einen bandförmigen Körper besitzen. Gemessen wurde die Größe an mit OsO_4-Dampf abgetöteten Tieren, die bei dieser Behandlung um etwa 10 Proz. schrumpfen.

Die Länge der *Keronopsis flavicans* ist 250—270 μ im Durchschnitt, die Breite ziemlich konstant 90 μ, so daß die Form auf diese Weise viel plumper wirkt als die der vorigen. Die Höhe ist gering, so daß auch die *K. flavicans* bandförmig wirkt, die Ventralseite ist dazu etwas eingezogen.

Die Farbe der *K. flava* ist gelbbraun und beruht auf zarten über das ganze Tier verteilten dreireihigen zitronengelben Chromocystenkränzen (im Gegensatz zu der von Kahl beschriebenen *flava-*

Form, die rötliche Chromocysten hat). In gut gefütterten Kulturen sehen die Tiere infolge der aufgenommenen Nahrungsballen dunkelbraun aus, allerdings nur bei schwachen Vergrößerungen.

Bei der *K. flavicans* ist die Farbe bedingt durch okergelbe, sehr dicht liegende Chromocystenkränze, die aber derartig empfindlich sind, daß sie sich schon durch eine kurze Hungerzeit zum Verschwinden bringen lassen, die Tiere haben dann ein grauweißes Aussehen.

Die Körperform der *K. flava* ist schlank und zeigt häufig ein etwas zugespitztes Schwanzende, vollgefressene Tiere sind in ihrem mittleren Teil oft stark ausgebuchtet. Das Peristom erstreckt sich über $^1/_3$ bis $^1/_4$ der Körperlänge. Der Mund liegt rechts vorn, wird abgeschlossen durch eine undulierende Membran und setzt sich nach hinten zu in einem Trichter fort, der weit ins Plasma hineinragt. Im vorderen Teil dieses Mundtrichters enden die sehr kräftigen Membranellen, die kranzförmig um das Vorderende des Tieres herumziehen (Fig. 1). Eine kontraktile Vakuole, wie sie für *K. rubra* angegeben ist, fehlt bei normalen Tieren dieser Form immer. Sie tritt nur in Ein- oder Mehrzahl bei absterbenden oder unter sehr schlechten Lebensbedingungen stehenden Tieren auf, z. B. bei Lebenduntersuchungen unter dem Deckglas oder in stark hypotonischen Lösungen, und pulsiert dann ganz unregelmäßig. Ebenfalls fehlt eine eigentliche Cytopyge; die verdauten Nahrungsreste sammeln sich ungefähr auf der Grenze des dritten zum letzten Viertel und werden in kleinen, lockeren Ballen immer an der gleichen Stelle an der rechten Seite ausgestoßen, ohne daß ein bleibender Ausführungskanal sichtbar wäre.

Fig. 1. Normale *Keronopsis flava*. Fixiert nach Flemming, Färbung nach Gelei. Vergr. 1 : 800.

Die Form der *K. flavicans* ist, wie schon gesagt, plumper als die der *flava*, die Enden sind weniger zugespitzt, das Peristom ist etwas länger, unterscheidet sich aber sonst nicht von dem vorigen. Eine kontraktile Vakuole tritt auch hier nur in schwer geschädigten Tieren auf. Dagegen werden die verdauten Nahrungsreste bei dieser Art in einer Vakuole gesammelt, die besonders bei hungernden Tieren deutlich als rundes Bläschen sichtbar wird und nach Ausstoßen der Nahrung nicht verschwindet. Ein bleibender Ausführungsgang ist aber auch hier nicht sichtbar, die Exkrete werden in großen Brocken in Höhe der Blase auf der rechten Seite ausgestoßen.

Bewimperung: *K. flava* besitzt vier Reihen kräftiger Ventralzirren, die vom hinteren Pol des Tieres nach vorn ziehen. Die beiden mittleren sind einander so stark genähert, daß sie bei flüchtiger Betrachtung eins zu sein scheinen. Diese beiden und die linke Marginalreihe setzen sich in mehrere starke Frontalmembranellen fort, die scharf vom adoralen Teil abgesetzt sind. Am hinteren Ende trägt die Art eine Reihe von Transversalzirren, die wohl zum Steuern benutzt werden, denn sie schleifen auf dem Boden hinter dem kriechenden Tier her. Sie sind aber sehr zart und daher in fixierten Tieren meist abgebrochen. Die adoralen Membranellen bestehen aus kräftigen, hintereinander stehenden Cilienbüscheln oder -platten, die von der linken Seite des Vorderendes in die rechts gelegene Mundöffnung hineinziehen. Auffallend ist, daß die sie zusammensetzenden

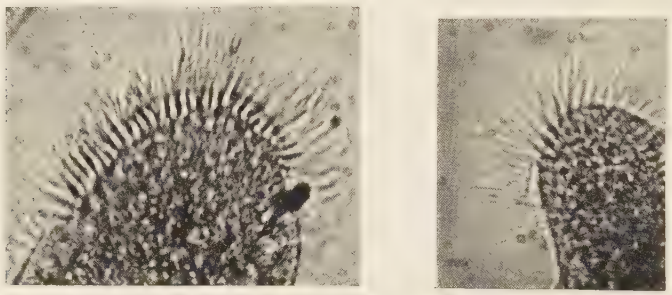


Fig. 2. Vorderenden beider Arten mit bäumchenförmigen Endspaltungen. Ungefärbt, fixiert mit OsO_4-Dampf. Photogr. Vergr. 1 : 500.

Wimpern nicht, wie bei den ventralen Zirren, bis zum obersten Ende miteinander verklebt sind, sondern in ihrem letzten Viertel in zahlreichen Fäserchen auseinanderspringen und so den Eindruck eines Bäumchens machen (Fig. 2).

K. flavicans unterscheidet sich in der Bewimperung von der *flava* nur dadurch, daß die beiden inneren (Ventral-) Zirrenreihen einander weniger genähert sind, so daß hier deutlich vier Reihen erkennbar sind.

Bewegung: In den Kulturschalen bewegen sich beide Arten ziemlich schnell und mit bloßem Auge sichtbar vor- und rückwärts, und zwar gleiten die Tiere auf dem Boden des Gefäßes oder an der Oberfläche der Nährlösung hängend herum. Besonders gern halten sie sich in und an Detritusbrocken auf. Schwimmende Tiere sieht man sehr selten, sie kommen dazu gelegentlich in Hungerkulturen, so daß man dies Verhalten wohl als Suchbewegung auffassen kann.

Schwimmend rotieren sie langsam um ihre Längsachse, wie dies auch von anderen Infusorien beschrieben worden ist. Häufiger beobachtet man, wie sie sich, das Hinterende auf den Gefäßboden gestützt, frei drehen. Jede Kontraktilität fehlt. Dafür sind aber beide Arten sehr metabol und zwängen ihren Körper so durch erstaunlich enge Lücken und Durchgänge. Sie gehören zu den ausgesprochenen Strudlern. Die durch die Membranellen in den Mund beförderte Nahrung bleibt, soweit sie Chlorophyll enthält, für kurze Zeit grün, ungefähr in der Mitte der Tiere schlägt sie in braun um, bleibt aber dann noch geformt. Erst im letzten Teil der Tiere sind irgendwelche Strukturen der aufgenommenen Algen nicht mehr zu erkennen.

Von der Struktur des Plasmas und dessen Einschlüssen ist, soweit es sich nicht um die groben Nahrungsbrocken handelt, in lebenden bzw. ungefärbten Tieren nichts zu erkennen. In mit OsO_4-Dampf geräucherten Tieren werden aber oft sehr große Mengen großer und kleinerer Fetttropfen sichtbar, die so dicht liegen können, daß vom Kernapparat kaum noch etwas sichtbar ist. Auch Glykogen wird gespeichert.

2. Kernverhältnisse.

a) Bei *K. flava.*

In fixierten Präparaten normaler Tiere fällt zunächst der Ma auf. Jedes Tier enthält ca. 60—80 Stück, die regellos, aber gleichmäßig über das Tier verteilt scheinen. Tatsächlich sind sie gegen die Peripherie verschoben, so daß das Innere der Zelle frei bleibt (Fig. 3, a u. b). Die einzelnen Ma-Brocken zeigen grobe Granula und viele kleinere und größere Vakuolen, die im Verhältnis zum Kern so groß sein können, daß dieser ein gestreiftes oder rosettenhaftes Aussehen, je nach seiner Form, bekommen kann (Fig. 4). Größe und Form der Kernbrocken variieren stark, auch im einzelnen Tier: es finden sich lange, band- oder scheibenförmige Teile, ebenfalls runde bis zu den winzigsten Teilchen herab. In selteneren Fällen kommen Tiere vor, die durchweg sehr große, klobige, unförmige, sehr stark färbbare Brocken führen (Fig. 5): durch veränderte Außenbedingungen konnten aber solche Formen nicht hervorgerufen werden, sie traten spontan mehr oder weniger häufig in normalen Kulturen und scheinbar gesunden Tieren auf. Auch sonst haben sich die Ma durch keine experimentellen Außenbedingungen in ihrer Struktur ändern lassen. Es scheint nur, als ob in längere Zeit sehr gut gefütterten Tieren die Ma ein homogeneres Aussehen bekommen, während

unter schlechten Ernährungsbedingungen die Vakuolen mehr hervortreten und schärfer konturiert sind.

Fig. 3. Ruhetiere von *K. flava*. Fixiert nach BOUIN-DUBOSQ, gefärbt mit MAYER's Hämatoxylin. Vergr. 1 : 800.

Eine Membran fehlt den Ma; sie konnte jedenfalls nie beobachtet werden und wäre auch mit der stark wechselnden Form kaum in Einklang zu bringen.

Die Anzahl der Mikronuklei beläuft sich auf fünf bis acht, die weitaus größte Zahl der Tiere hat sechs. Ihre Anzahl verhält sich zu der der Ma jeweils ungefähr wie 1:10. Die Mi liegen stets in einer Reihe hintereinander von Pol zu Pol und immer an der gleichen Stelle im Tier: an der rechten Seite, beginnend dorsal über der Mundöffnung und ebenfalls gegen die Peripherie verschoben, wie auch die Ma (Fig. 3, a u. b). Sie sind bei *K. flava* gut kenntlich als sehr scharf konturierte, gut färbbare, kugel- bis eiförmige Gebilde mit einem

Fig. 4. Verschiedene Formen der Ma von *K. flava*. Fixiert nach FLEMMING, gefärbt nach FEULGEN. Vergr. 1 : 2500.

Fig. 5. Extrem plumpe Ma; Mi an den Ma angelagert; beides *K. flava*. Fixierung und Färbung wie Fig. 4. Vergr. 1 : 2500.

Durchmesser von ca. 2,5 μ: diese Größe ist für den Ruhekern absolut konstant. Häufig kommt es vor, daß sie eng an einen der Ma angelagert sind (Fig. 5). Nucleolus oder Centrosom sind nicht festzustellen, die Mi färben sich vollkommen homogen.

β) Bei *K. flavicans.*

Auch *K. flavicans* hat den schollig verteilten Ma (Fig. 6); die Anzahl der Teile verhält sich hier zu der der Mi ungefähr wie 20 : 1, die einzelnen Brocken scheinen aber kompakter und weniger vakuolisiert zu sein, ihre Form ist meist rundlich und viel einheitlicher als bei denen der *flava* (Fig. 7). Ihre Färbbarkeit ist sehr gut.

Die Mi sind in Ruhetieren nur dann sichtbar, wenn sie ganz besonders gut liegen. Sie erscheinen als runde, sehr zarte Bläschen, die wesentlich kleiner sind als bei der *flava*-Form (Durchschnitt ca. 1,8 μ) und sich sehr schwach färben. Eine Membran ist zwar nicht deutlich erkennbar, aber sicher vorhanden, denn die Kerne sind im Gegensatz zu den Ma scharf konturiert. Ihre volle Anzahl läßt sich nur an Teilungstieren feststellen und betrug in den durchgezählten Exemplaren

Fig. 6.

Ruhetier von *K. flavicans.* Fixierung und Färbung wie Fig. 3. Vergr. 1 : 800.

Fig. 7.

K. flavicans: Ma in Ruhe. Fixierung und Färbung wie Fig. 3. Vergr. 1 : 2500.

8—10. Sie sind hier nicht regelmäßig in einer Reihe von Pol zu Pol angeordnet, sondern in zwei Reihen. Häufig liegen auch einzelne Kerne ganz außerhalb dieser Reihen.

3. Teilung.

a) Äußere Erscheinung der Teilung.

α) Bei *K. flava.*

In lebenden Kulturen sind die Teilungstiere leicht kenntlich durch die Veränderung ihrer Form, und zwar in den frühen Stadien durch das oft unförmig verdickte Vorderende, in den späteren durch die größere Länge und die Einschnürung des Zelleibes. Füttert man Kulturen, in denen keine Nahrung mehr vorhanden war, so finden sich nach 1—2 Tagen, je nach dem vorherigen Zustande der Kultur, größere Mengen an Teilungstieren. Die Bewegung läßt während der ganzen Teilung nicht nach und ändert sich in ihrer typischen Art nur ganz am Schluß, wenn die Tiere drehende Bewegungen gegeneinander machen, um den letzten verbindenden Plasmastrang zu zerreißen.

Die Nahrungsaufnahme hört schon in der frühen Prophase auf, weil gleich zu Beginn der Teilung die undulierende Membran am Mundrand verschwindet. Im Laufe der Teilung werden dann die vorher aufgenommenen Nahrungsteile noch verdaut, frisch geteilte Tiere sind stets frei davon. Im allgemeinen teilt sich bei der nächsten Teilung der vordere der beiden Partner um kurze Zeit früher (das Hintertier ist häufig, aber nicht immer, kenntlich durch einen Plasmazipfel linksseitig am Abschluß des Kopfkranzes, dem Rest des Verbindungsstranges). Dieser Zeitunterschied wird dadurch bedingt, daß das Peristom des hinteren Tieres erst etwas später ausgebildet ist und in Funktion tritt.

β) Bei *K. flavicans.*

Im großen und ganzen verhalten sich die *K. flavicans* in der vegetativen Teilung sehr ähnlich wie die *flava.* Vor der Teilung wachsen die Tiere zu ihrer maximalen Länge von ca. 300 μ aus und strecken sich dann während der ganzen Teilung überhaupt nicht mehr, so daß die aus einer Teilung hervorgehenden Partner oft unter 150 μ lang sind und dann ein plumpes, etwas starres Aussehen haben. Durch diese Wachstumsverhältnisse ist auch der nach unten zu auswachsende Wimperkranz, der bei der *flava* immer vollkommen gerade verläuft, bei der *flavicans* besonders in der Region des hinteren Tieres stark eingebuchtet und streckt sich erst, nachdem die Tiere auseinandergerissen sind und nun sehr schnell in die Länge wachsen. Jedenfalls findet man die extrem kurzen Formen auch in sich gut vermehrenden Kulturen nicht häufig, andererseits ist es aber offensichtlich, daß sie aus der Teilung ursprünglich immer so hervorgehen.

b) Kernverhältnisse bei der Teilung.

a) Bei *K. flava.*

Die vegetative Teilung wird durch die Ma eingeleitet, die sich, während die ersten Mi in die Prophase eintreten, von allen Seiten des Tieres in der Gegend des Peristoms zusammenzuziehen beginnen (Fig. 8 a). Der Mundtrichter mit der undulierenden Membran ist um diese Zeit schon aufgelöst, das ganze Tier am Vorderende oft stark verdickt. Im Laufe der Teilung teilt sich dann jeder Ma hantelförmig durch, wobei

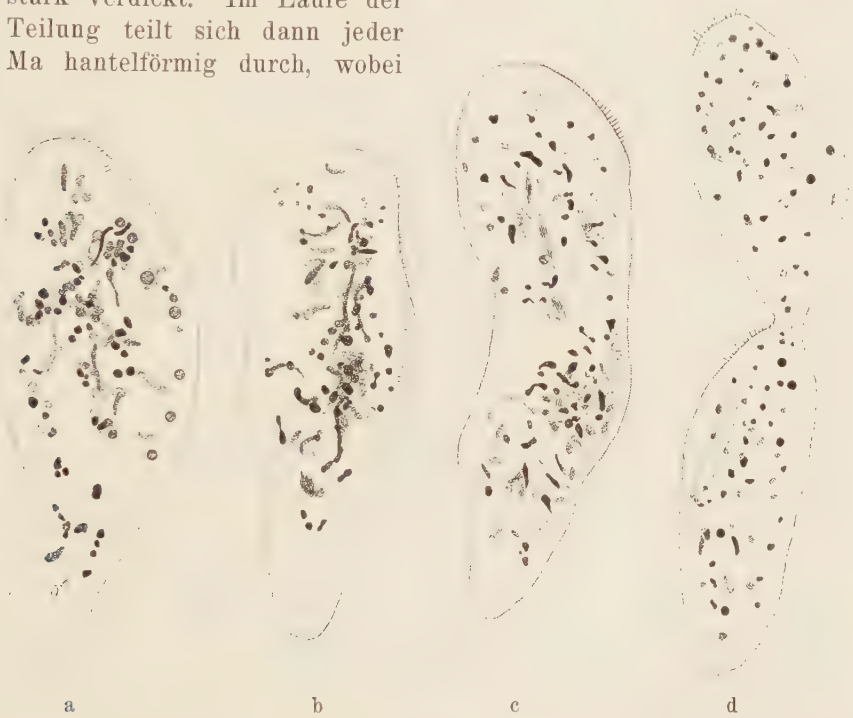


Fig. 8. Teilungsstadien von *K. flava.* Gefärbt und fixiert wie Fig. 3. Vergr. 1 : 800.

die Kerne oft abenteuerliche Formen annehmen und sich derartig in die Länge ziehen, daß sie über die halbe Breite des Tieres reichen können. Dabei verschwindet die ursprüngliche vakuoläre Struktur der Ma mehr und mehr, sie färben sich intensiver als im Ruhestadium und sind viel homogener (Fig. 9).

Während das Peristom in die Länge wächst, wandern mit seinem unteren Ende die sich teilenden Ma dem hinteren Teil des Tieres zu (Fig. 8 b). Ist das Peristom endgültig zerrissen und auf das vordere und hintere Tier verteilt, ungefähr auf dem Stadium der

Anaphase der Mi, so sind die Ma im vorderen Teil schon wieder normal angeordnet (Fig. 8 c). Beim Beginn der eigentlichen Zelldurchschnürung sind sie auch im hinteren Tier zum Ruhestadium übergegangen. Um diese Zeit wird der Mundtrichter und etwas später die undulierende Membran neu gebildet (Fig. 8 d).

Das Verhalten der Ma in der Teilung von *K. flava* liegt also zwischen den bisher für mit verteiltem Ma beschriebenen Formen: Für *Dileptus gigas* wird von Studitsky (1930) angegeben, daß sich jeder der vorhandenen Ma an Ort und Stelle teilt, dann werden die Partner regelmäßig über die beiden Tochtertiere verteilt. Bei *Uroleptus mobilis*, das allerdings nur die sehr geringe Anzahl von acht Ma hat, beobachtete Calkins (1919) dagegen, daß diese Kerne während der vegetativen Teilung alle zusammenfließen und zuerst eine un-

Fig. 9. Ma von *K. flava* in Teilung. Fixierung und Färbung wie Fig. 3. Vergr. 1 : 2500.

Fig. 10. Teilung der Mi von *K. flava*. Fixierung und Färbung wie Fig. 3. Vergr. 1 : 2500.

regelmäßig gewundene Masse, später einen einzigen, kompakten, ellipsoiden Ma bilden, der dann zuerst wieder in zwei Teile zerfällt. Je eine Hälfte kommt auf die beiden Tochtertiere und teilt sich erst dann in die acht ursprünglichen Teile. Ähnlich verhalten sich die vier Teile des Ma von *Gastrostyla Steinii* (Weyer 1930) und von *Holosticha scutellum* (A. Gruber 1887). Hier kommt es aber nicht zu einem einheitlichen Ma, und die einzelnen aus der Teilung resultierenden Ma werden sofort auf die Tochtertiere verteilt.

In der normalen vegetativen Teilung teilen sich die Mi synchron. Im allgemeinen tritt der zweite oder dritte von vorn zuerst in die Prophase, während die Ma schon in der Gegend des Peristoms angehäuft sind: es folgen dann die anderen Mi der Reihe nach (Fig. 10). Die Prophase ist durch eine erhebliche Volumenzunahme der Kerne gekennzeichnet, der Mi wird blasenförmig und der Durchmesser wächst auf ca. 4 μ an, gegen ca. 2,5 μ des Ruhekernes. In der frühen Prophase sind die Kerne vollkommen strukturlos und färben sich weniger stark als die Ruhekerne. Später treten stärker färbbare Kügelchen auf, die teilweise durch sehr feine Fäden verbunden sind. In der späten Prophase vergrößert sich das Kernvolumen weiter auf ca. 5,0:3,5 μ, der Kern hat also ellipsoide Form angenommen, die Pole sind abgerundet. Die Chromosomen sind nun deutlich sichtbar als acht dünne Fäden, die an der Peripherie des Kernes liegen und durch seine ganze Länge von Pol zu Pol ziehen. In einem späteren Stadium werden die Kernpole spitz. Während der Metaphase erfolgt die größte Zusammenziehung der dünnen Chromosomenfäden, sie lösen sich von den Polen und liegen nun bandförmig um die Mitte des Kernes. In diesem Stadium wird auch die sehr feine, nicht färbbare Spindelfigur um die Kernpole herum vorübergehend sichtbar, allerdings nur bei sehr günstiger Lage des Kernes im Plasma. Centrosomen konnten nicht beobachtet werden.

Zu Beginn der Anaphase rücken die Chromosomen in der Mitte auseinander, die Grundsubstanz hellt sich hier auf. Der Kern wird nun sehr schmal und lang (3:15 μ), und die Pole außerordentlich spitz, die Spindelfasern werden in der Mitte noch einmal schwach sichtbar. Um diese Zeit schnürt sich der Kern ein, die Verbindungsbrücke wird immer schmäler, bis schließlich die beiden Kernhälften auseinanderreißen und nun als sehr spitze, schlanke, spindelförmige Gebilde erscheinen, bei denen die färbbare Substanz jeweils an den äußeren Polen liegt, die inneren Pole sind farblos. Stadien der Rückbildung dieser Tochterkerne zum Ruhekern habe ich nie finden können, die späte Telophase muß sehr schnell vor sich gehen und scheint außerdem schlecht färbbar zu sein, denn man findet im allgemeinen in fertig geteilten Tieren nur die Mi, die endgültig in den Ruhezustand übergegangen sind, und auch diese sind vorerst nur sehr schwach färbbar. In der Zeit verläuft die Mitose so, daß die ersten Stadien bis zur frühen Metaphase sehr langsam vor sich gehen und sehr gut färbbar sind, dafür die späteren außerordentlich schnell, die Färbbarkeit läßt nach. So fanden sich in einem Präparat mit 180 Teilungstieren 69 Prophasen, 91 frühe Metaphasen und nur 5 Ana- und 15 Telophasen.

Der Beweis, daß auch in diesem Fall sich die Chromosomen tatsächlich längs teilen, wie ihn WEYER bei Gastrostyla führen konnte, läßt sich im Fall der *Keronopsis* nicht erbringen, da die Chromosomen viel zu zart sind und so in der Metaphase kein Spalt erkennbar ist.

Fig. 11. Metaphase von *K. flavicans*. Fixierung und Färbung wie Fig. 3. Vergr. 1 : 800.

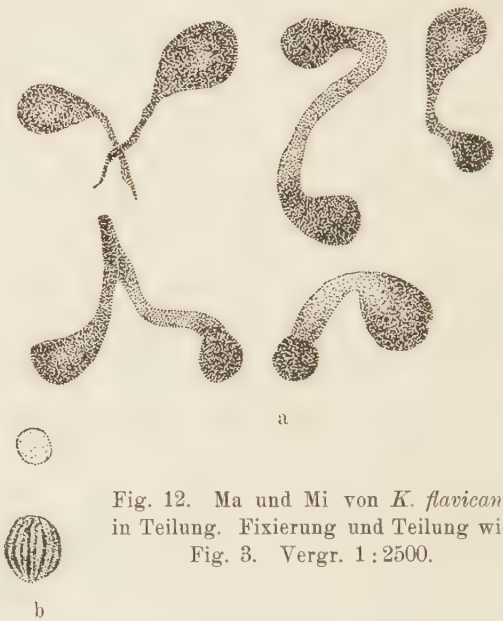


Fig. 12. Ma und Mi von *K. flavicans* in Teilung. Fixierung und Teilung wie Fig. 3. Vergr. 1 : 2500.

β) Bei *K. flavicans*.

Bei *K. flavicans* konzentrieren sich die Ma vor der Teilung etwas weniger dicht als bei der *flava* (Fig. 11). Sie färben sich noch besser als im Ruhezustand, die kleinen Vakuolen verschwinden. Dann teilt sich auch hier jeder Kern hantelförmig, wobei die einzelnen Teile extrem lang werden können (Fig. 12 a). Später werden sie dann auf die beiden Tochtertiere verteilt. Die Mi werden während der Teilung etwas besser sichtbar als im Ruhezustand. Trotzdem war die Färbung bei allen Bemühungen immer noch so zart, daß häufig nicht alle Mi gefunden werden konnten. Die Mitose verläuft genau wie bei der *flava*, es sind auch hier acht sehr dünne, lange Chromosomen vorhanden (Fig. 12 b). Eine Spindel wurde nicht beobachtet,

weil spätere Teilungsstadien überhaupt nicht gefunden wurden; wahrscheinlich sind die Kerne dann noch schlechter färbbar als bis zur frühen Metaphase und deshalb nicht aufzufinden.

IV. Versuche über die Teilungsrate.

α) Bei *K. flava.*

Die Teilungsraten von *K. flava* wurden in drei Reihen festgestellt:

1. bei normaler Temperatur von 20—21° in Nordsee-Erdschreiberlösung;

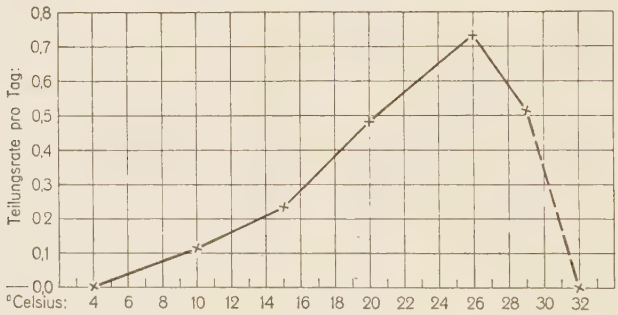
2. bei veränderter Temperatur von 4°, 9—10°, 14—15°, 26, 28—29 und 32°;

3. bei veränderter Konzentration der Nährlösung.

1. Die Zählkulturen wurden zur Feststellung der Teilungsraten in kleinen Boveri-Schalen gehalten, weil die Infusorien in den wesentlich kleineren, hohlgeschliffenen Objektträgern zu leicht mit der Luft in Berührung kommen und dann platzen. Außerdem sind hier die einzelnen Tiere groß genug, daß man sie mit der sechsfachen Lupe gegen dunklen Untergrund leicht erkennen und ihre Zahl auch in größeren Lösungsmengen kontrollieren kann. Die Zählkulturen wurden alle 1—2 Tage durchgesehen und gegebenenfalls einer aus der Teilung resultierender Partner in eine neue Schale gebracht, und zwar möglichst das vordere Tier, das sich ja etwas eher wieder teilt. Das zweite Tier wurde jeweils in einer zweiten Reihe weitergeführt, um darauf zurückzugreifen, wenn der Partner in der Hauptreihe aus irgendwelchen Gründen einging. Durch diese Methode wurde jede Möglichkeit zur Konjugation von vornherein ausgeschaltet. Das Temperaturoptimum liegt für *K. flava* außerordentlich hoch, nämlich bei 26° mit einer Teilungsrate von 0,74 pro Tag. Trotz der besseren Vermehrung wurden aber die Massenkulturen stets bei Zimmertemperatur gehalten, weil bei 26° natürlich auch die Bakterien sehr schnell wachsen, vielleicht auch das Futter geschädigt wird und die Kulturen auf diese Weise viel eher zu Depressionen kommen können. Schon bei 28—29° geht die Teilungsrate herunter auf 0,52 pro Tag und schwankt leicht. Die einzelnen Individuen sind bei dieser Temperatur schon merklich kleiner und blasser und sehr beweglich, aber auch sehr empfindlich, so daß häufig einzelne Tiere eingehen. Bei 32° können die Tiere nur wenige Tage existieren, auch in Massenkulturen zerfallen sie innerhalb einer Woche restlos, ohne vorher Depressionserscheinungen zu zeigen.

Die für die Massenkulturen günstigste Temperatur liegt bei 20—21°; sie entspricht vermutlich am besten den natürlichen Lebensbedingungen der Art. Die Tiere haben hier Form, Farbe, Größe und Beweglichkeit, wie sie sie in den rohen Ausgangskulturen zeigten bei einer Teilungsrate von 0,49 pro Tag, die sich fast ohne jede Schwankung halten läßt.

Die Versuchsreihen für 10 und 15° wurden in den 5 Wintermonaten in konstanten, wassergekühlten Kälteschränken mit je vier Klonen durchgeführt. Bei beiden Temperaturen sind die Tiere erheblich größer, um ca. 300 μ herum, und bewegen sich nur sehr langsam. Eine Wiederabnahme der Größe, wie sie JOLLOS bei längerer Züchtung in der Kälte beobachtet hat, trat hier nicht wieder ein, es könnte aber sein, daß die Versuche dafür nicht lange

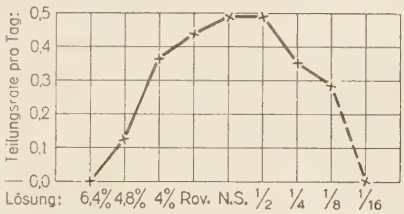


Kurve 1. Teilungsraten bei Änderung der Temperatur!

genug durchgeführt sind. Bei 15° sinkt die Teilungsrate auf 0,23, bei 10° auf 0,12 pro Tag, und zwar blieb bei 15° die Teilungsrate während der 6 Monate des Versuchs konstant, während sie bei 10° innerhalb von 5 Monaten von 0,15 auf 0,09 Teilungen pro Tag kontinuierlich sank. Leider ließ sich der Versuch nicht länger fortführen, weil sich der wassergekühlte Kälteschrank im Frühjahr nicht länger konstant halten ließ. Zwischen 10 und 20° steigt also die mittlere Teilungsrate bei einer Wärmezunahme um 5° um das Doppelte, zwischen 20—21° und 26° aber nur noch um die Hälfte (Kurve 1).

Drei weitere Zählklone wurden bei 4° (Frigidaire) gehalten und teilten sich dann fast bzw. überhaupt nicht mehr. So lebte die Kultur $a4_2$ 110 Tage, ohne sich zu teilen, die Kultur $a4_3$ 45 Tage, $a4_1$ 99 Tage mit nur zwei Teilungen. Die beiden letzteren gingen bei einer Depression, die durch schlechtes Futter entstanden war

und auch bei einer Reihe anderer Kulturen auftrat zugrunde, während $a4_2$ leider im Eisschrank etwas später umgeworfen wurde. Es läßt sich aber daran doch nachweisen, daß auch durch eine ganz bestimmte Temperatur, die offenbar auch bei verschiedenen Klonen der gleichen Art etwas schwanken kann (siehe $a4_1$ mit zwei Teilungen trotz gleicher Behandlung), Nahrungsaufnahme und -verbrauch so reguliert werden können, daß keine Teilung eintritt. Damit fehlt eine Vergrößerung des Systems, wodurch die verjüngende Wirkung der Fortpflanzung überflüssig ist. Ähnliches erreichte Stern durch Reduktion der Beleuchtungsdauer an *Eudorina elegans* und Chejfec durch genaue Dosierung der Nahrung an *Paramaecium caudatum*. Die Lebensdauer von 110 Tagen entspricht ca. 54 Teilungsschritten bei einer normalen Temperatur von 20°, ohne daß irgendwelche Degenerationserscheinungen eingetreten wären. Es läßt sich also auch auf diese Weise ohne Verletzung der Zelle bzw. des Kernapparates ein Gleichgewicht herstellen.



Kurve 2. Teilungsraten bei Änderung der Konzentration der Nährlösung!

Für die *Keronopsis*-Kulturen ist die Konzentration des normalen Nordseewassers optimal, die Teilungsrate ist aber bei Verdünnung auf die Hälfte noch gleich, nämlich 0,49 pro Tag. Erst bei Verdünnung auf $^1/_4$ (was einem Prozentsatz von 0,8 entspricht, wenn man die Konzentration des verwendeten Seewassers mit 3,2 Proz. annimmt) sinkt sie auf 0,35, bei $^1/_8$ (= 0,04 Proz.) auf 0,29 und wird sehr unregelmäßig. Bei einer Verdünnung von $^1{}_{16}$ (= 0,02 Proz.) läßt sich die Teilungsrate nicht mehr feststellen, da sich die Tiere nur noch wenige Tage mit einigen Teilungen am Anfang halten. Bei steigender Verdünnung verlieren die Tiere mehr und mehr ihre braune Farbe und sind bei $^1{}_{16}$, auch in Massenkulturen, fast vollkommen farblos, so daß anzunehmen ist, daß durch den Mangel an Salzen überhaupt oder einem bestimmten der normal vorhandenen Salze die Chromocysten (Protrichocysten) zerstört oder sonstwie zum Verschwinden gebracht werden. In den sehr schwachen Konzentrationen, beginnend bei $^1/_8$ und noch stärker bei $^1/_{16}$, wird außerdem die Pellicula klebrig, denn die Tiere beginnen am Gefäßboden zu haften und sind oft mit Futter total beklebt. In diesen Stadien ist auch die Beweglichkeit sehr schwach (Kurve 2).

Als hypertonische Lösung wurde zunächst der Versuch mit Rovigno-Erdschreiber gemacht. Die Teilungsrate sinkt sofort, aber nur in geringem Maße, auf 0,44. Die weitere Konzentration des Seewassers wurde in den ersten Versuchen so erreicht, daß normaler Nordsee-Erdschreiber auf die Hälfte eingedampft (ca. 6,4 Proz.) und diese Lösung dann auf die gewünschten Konzentrationen verdünnt wurde. Da aber beim Eindampfen eine Ausflockung entsteht, mit der ein Ausfall von Salzen und damit eine unkontrollierbare Veränderung der Lösung verbunden sein kann, wurde später die höhere Konzentration durch Zusatz entsprechender Mengen NaCl zur Nordsee-Erdschreiberlösung (angenommen mit 3,2 Proz.) erreicht.

In der ersten Reihe war die Teilungsrate bei 4 Proz. noch 0,33, bei 4,8 Proz. 0,27. Bei 6,4 Proz. teilten sich die Tiere im besten Fall in 57 Tagen noch 6mal. In der zweiten Reihe, also mit stärkerem Zusatz von NaCl, war die Teilungsrate schwächer, nämlich bei 4 Proz. 0,37, bei 4,8 Proz. halten sich die Tiere nur noch knapp einen Monat am Leben mit vier Teilungen, bei 6,4 Proz. im Höchstfall noch 14 Tage; auch Massenkulturen gingen bald ein. Aus dem Vergleich der beiden Reihen ergibt sich, daß entweder die größere Kochsalzmenge die Tiere schädigt, oder aber durch das Eindampfen soviel Salze ausfallen, daß die Endkonzentration merklich niedriger ist, als angenommen wurde.

Die Zählkulturen bei 20—21° wurden 12 Monate mit 180 Teilungsschritten gehalten, bei 26° ebenfalls 12 Monate mit 280 Teilungsschritten. Die Versuchsreihen mit über- und unterkonzentrierten Lösungen wurden 3—4, die Kälteversuche 5—6 Monate geführt. In allen Versuchsreihen pflanzten sich die Tiere nur rein vegetativ fort, ohne daß, bei einwandfreier Nährlösung und gutem Futter, Depressionen aufgetreten wären. Unter optimalen Versuchsbedingungen blieb die Teilungsrate während der ganzen Zeit regelmäßig und zeigte keinerlei Rhythmus. Ganz geringe Schwankungen an einzelnen Stellen stehen vielleicht im Zusammenhang mit der jeweiligen Verteilung des Futters, mit Depressionen haben sie jedenfalls nichts zu tun. Unter schlechten Lebensbedingungen wurde die zwischen den Teilungen liegende Zeit um so unregelmäßiger, je schlechter diese Außenbedingungen wurden, aber als Depressionen kann man auch diese Schwankungen nicht bezeichnen.

Alle Anzeichen für Endomixis und Konjugation fehlten vollkommen, auch in den parallel geführten Massenkulturen. Ferner traten in den gesamten Kulturen niemals Cysten auf.

Depressionen konnten aber in Massenkulturen jederzeit experimentell hervorgerufen werden: Füttert man eine Massenkultur kurze Zeit lang reichlich mit gutem Futter und überläßt sie dann sich selbst, so beginnen die Tiere nach einigen Tagen zu hungern, wenn alle Nahrung aufgezehrt ist. Nach einigen Tagen werden einzelne und weiterhin immer mehr der Infusorien der Kultur dunkelbraun und abnorm groß, können sich aber in diesem Zustande noch teilen. Häufig zeigen solche Individuen schon im Leben in ihrem Körper eine kompakte schwärzliche Masse, vermutlich unverdaute Reste schlechter Nahrung. Sie verlieren dann mehr und mehr ihre Beweglichkeit, deformieren zu oft abenteuerliche Formen, wobei auch die Bewimperung geschädigt wird. In den letzten Stadien kugeln sie sich vollkommen ab, es existiert nur noch ein kleiner Wimperschopf an einer einzigen Stelle, die wohl das ursprüngliche Vorderende anzeigt, die Tiere bewegen sich nur noch taumelnd auf der Stelle, zeigen große Vakuolen und platzen schließlich. Diese runden Gebilde wurden im Anfang für Cysten gehalten, haben aber damit nichts zu tun.

Füttert man eine Kultur in den Anfangsstadien der Depression rechtzeitig wieder, so schreitet diese nicht weiter fort, und die Kultur erholt sich sehr schnell. Depressionen setzen um so schneller ein, je geringer die Menge der Nährlösung (ob frisch oder alt, spielt dabei gar keine Rolle) im Verhältnis zur Menge der Tiere und dem vorhandenen Detritus ist, und je weiter die Kultur verhungert ist. Versuche, einzelne *Keronopsis* bei beginnender Depression durch Übertragen in ein günstiges Medium noch zu retten, und wieder zur Teilung zu bringen, haben nie Erfolg gehabt. Wenn sich also die Depression schon äußerlich sichtbar macht, sind die Tiere dem Eingehen verfallen. In Präparaten von derartigen Kulturen zeigt sich, daß die Ma zu einem Haufen verklumpt sind und schließlich ganz verschwinden. Die Mi geraten bei der Deformation aus der Reihe, liegen regellos im Körper herum und verschwinden schließlich auch. Ursache der Depressionen bei *K. flava* sind also Hunger in Verbindung mit größeren Mengen von Exkretstoffen bzw. Detritus. Unter diesen Bedingungen können sie in jedem Kulturmedium und besonders in höheren Temperaturen auftreten.

β) Bei *K. flavicans.*

Die optimale Temperatur für *K. flavicans* ist 20—21°, also Zimmertemperatur; die Teilungsrate liegt hier bei 0,5 pro Tag, die Zwischenräume zwischen den einzelnen Teilungen sind aber nicht

ganz so regelmäßig wie bei der *flava*, ohne daß sich Depressionen oder auch nur beträchtliche Schwankungen ergeben würden. Die Unregelmäßigkeit liegt wahrscheinlich auch hier in der Futterverteilung oder minimalen Schwankungen der Nährlösung. Bei höheren Temperaturen läßt sich *K. flavicans* überhaupt nicht mehr züchten, so zerfallen Massenkulturen bei 26° innerhalb von 3 Tagen vollkommen. Bei 15° geht die Teilungsrate zurück auf 0,23, bei 10° auf 0,11. Auch hier nimmt sie also bei der Erhöhung der Temperatur um 5° jeweils um ca. 100 Proz. zu. Bei 4° halten sich die Tiere nur noch wenige Tage und gehen dann ein, ohne sich zu teilen.

In bezug auf die Nährlösung ist *K. flavicans* noch viel empfindlicher. Schon die Gewöhnung der Kulturen an die Nordsee-Erdschreiberlösung dauerte ca. 2 Monate, und in den ersten Wochen teilten sich die Tiere dabei überhaupt nicht. Die Verdünnung der Lösung auf die Hälfte vertrugen auf längere Zeit nur Massenkulturen, die Tiere verlieren aber dabei vollkommen ihre Farbe und teilen sich kaum noch; weitere Verdünnungen sind überhaupt ausgeschlossen.

In Rovigno-Erdschreiber geht die Teilungsrate auf 0,42 im Durchschnitt herunter und schwankt in den einzelnen Klonen sehr. Die Empfindlichkeit gegen Wärme ist bei der höheren Konzentration des Mediums noch größer, und es kommt auch sonst hier schon häufig vor, daß einzelne Partner oder auch ein ganzer Klon eingehen. Weitere Konzentration des Mediums auf 4 Proz. und höher werden nicht mehr vertragen, d. h. bei 4 Proz. können sich die Tiere bis zu 14 Tagen mit wenigen Teilungen am Anfang halten, gehen dann aber ein.

Die Zählkulturen bei 20—21° wurden 10 Monate gehalten mit 140 Teilungsschritten, diejenigen in Rovigno-Erdschreiber 3—4 Monate. Innerhalb der engen Grenzen der Abänderungsmöglichkeit der Außenbedingungen traten Depressionen in den Zählkulturen bei *K. flavicans* nie auf. Sie kamen aber gelegentlich in einzelnen Massenkulturen vor, ohne daß ein Grund dafür gefunden werden konnte. In solchen Kulturen nehmen die Tiere wie bei *flava* eine abnorme Gestalt an, ohne allerdings die Farbe zu ändern, es entstehen Vakuolen im Plasma, schließlich kugeln sich die Tiere ab, werden unbeweglich und sterben ab. Experimentell ließ sich diese Erscheinung nicht erzeugen, die Kulturen vertragen Anreicherung zusammen mit Exkretstoffen über längere Zeit ohne weiteres und gehen dann schließlich an Hunger zugrunde, ohne erst Depressionsformen zu bilden.

Anhang: Modifikation bei *K. flava.*

Im Februar 1932 trat spontan in zwei Massenkulturen (Klon c und i) eine Modifikation auf, und zwar erschienen Tiere, die in der Mitte verwachsen waren, aber freie Vorder- und Schwanzenden hatten. Auf diese Weise sind zwei Peristome und eine übernormale Anzahl von Wimper-Längsreihen vorhanden. Im allgemeinen sind solche Individuen der ganzen Länge nach verwachsen und sehen dadurch sehr plump aus, sind aber normal beweglich. Es kommen aber auch solche vor, die nur noch in der Mitte verwachsen sind und im übrigen ganz freie Enden haben. Solche Formen können schließlich an der dünnen Verwachsungsstelle auseinanderreißen und geben dann zwei normale Tiere, die sich auch normal weiterteilen.

Aus den Massenkulturen sind am 16. und 22. Februar drei Zählkulturen angelegt, und zwar zwei Doppeltiere (i2x 1 und 2) und ein normales Tier (i1x) als Kontrolle aus der gleichen Kultur. Die Teilungsrate war bei allen dreien ungefähr gleich. Sie wurden gehalten:

i2x 1	94 Tage	mit	40	Generationen	(+ 8 normale Abspaltungen)
i2x 2	116 „	„	47	„	(+ 2 „ „)
i1x	83 „	„	41	„	.

Der Versuch, diese Modifikation experimentell herzustellen, ist nicht geglückt. Es wurde dazu eine normale Abzweigung eines Klons genommen, aus dem im Februar die Modifikation entstanden war. Die ganze Nachkommenschaft war aber dauernd normal, trotz veränderter Futter- und Temperaturbedingungen. Ebenfalls ließen sich die modifizierten Tiere durch Hunger nicht zur Abspaltung von normalen Tieren bringen.

Später sind in gut gefütterten Zähl- und Massenkulturen diese Modifikationen bei 29° gelegentlich wieder aufgetreten.

V. Versuche zur Auslösung von Konjugation.

a) Bei *K. flava.*

Alle Versuche, bei *K. flava* eine Konjugation auszulösen, waren vergeblich.

1. Gut gefütterte Kulturen wurden gereinigt und in frische Nährlösung gebracht (Hunger).

2. Gut gewachsene Kulturen wurden in der Zentrifuge eingeengt und dann gebracht in:

a) 1—2 ccm frischen Erdschreiber;

b) 1—2 ccm der alten Lösung;

c) 1—2 ccm frischen Erdschreiber + Futter.

3. Wie bei 2. auf 26, 28, 32 und 4°.

Solange Futter vorhanden ist, leben und teilen sich die Tiere wie in nicht angereicherten Kulturen. Fehlt es, fangen sie je nach der Sauberkeit der Kultur an zu degenerieren oder aber Hungerformen zu bilden (s. Teil VI).

4. Wechsel von Hitze und Kälte (4—32°).

5. Über- und unterkonzentrierte Lösungen, verbunden mit Hunger- und Temperaturwechsel.

6. Künstliche Lösungen: Seewasser nach Herbst. In diesen Lösungen wurden dann fortgelassen (und durch destilliertes Wasser ersetzt): NaCl, KCl, $MgSO_4$, $CaCl_2$, bei allen war die p_H 7,5 (wie auch im Erdschreiber um die gleiche Zeit); bei Fehlen von $NaHCO_3$ sank die p_H auf 6,0.

7. Überschuß von $CaCl_2$ und KCl.

Konjugation ist in keinem Falle erfolgt, ebenfalls blieben in allen Lösungen die Mi und Ma vollkommen unverändert.

In synthetischem Seewasser wachsen die Kulturen an sich ebensogut wie in natürlichem, teilen sich aber, wahrscheinlich bedingt durch die geschädigten Algen, schlechter. Fehlen von $MgSO_4$ wird schlecht ertragen, die Tiere verkümmern dann sehr bald. Fehlen von NaCl ruft im Augenblick einen Schock hervor, die Tiere werden sehr hell, kugeln sich ab und sind kaum noch beweglich, viele gehen dabei ein. Der Rest erholt sich aber nach einigen Tagen und nimmt wieder normale Form an, nur bleiben die Tiere ganz hell und durchscheinend, völlig farblos. Aber auch in solchen Tieren sind die Kerne im Leben nicht zu sehen.

Fehlen und Überschuß von $CaCl_2$ und KCl ruft keine merklichen Veränderungen hervor.

β) Bei *K. flavicans.*

Bei dieser Form ließen sich die bei der *flava* angewandten Methoden nicht verwenden, weil sie viel zu empfindlich gegen Außenbedingungen ist. Dagegen trat während der 10 Monate der Kultivierung 2 mal spontan Konjugation auf, und zwar das erstemal in einer weitgehend verhungerten und verschmutzten Massenkultur. Daraufhin wurde immer wieder versucht, die Tiere nun auch in gut kontrollierten Klonkulturen zur Konjugation zu bringen. Der zweite Fall von Konjugation trat bei solchen Versuchen in einem Massen-

klon cf. 14 auf. Die Kultur hatte in sauberer Lösung ohne Futter 4 Wochen gestanden, dann wurden die Tiere in eine ca. 2 Monate alte vollkommen verschmutzte Lösung gebracht, in der schon mehrere Kulturen vorher restlos eingegangen waren. Unter diesen Bedingungen fand schon nach 24 Stunden Konjugation statt. Mit dieser Methode haben sich dann aber weitere Konjugationen nicht erzeugen lassen.

Jedenfalls läßt sich auf Grund der Versuche sagen, daß durch Hunger allein Konjugation auch bei dieser Art nicht hervorgerufen werden kann: denn es wurden im Laufe der Zeit über 100 Hungerkulturen beobachtet, in denen niemals Anzeichen von Konjugation gefunden werden konnten.

In beiden Fällen von Konjugation war leider das fixierte Material wenig aufschlußreich, weil die Menge zu gering war, so daß über die Kernverhältnisse nichts ausgesagt werden kann. Auch Cystenbildung konnte bei dieser Art nie beobachtet werden.

VI. Hungertiere bei *K. flava.*

Bei dem Versuch, bei *K. flava* durch Hunger, wie dies für andere Infusorien in der Literatur oft angegeben ist, Cystenbildung zu erhalten, trat eine andere interessante Erscheinung auf.

Im Beginn der Hungerzeit teilen sich die Tiere noch 1—2mal, werden dann zuerst sehr schmal und verlieren schließlich auch an Länge, und zwar so erheblich, daß die extremen Formen bis auf 20—30 μ Länge und 10—15 μ Breite herunterkommen können. Anfangs sind sie noch voll beweglich und haben trotz der geringeren Größe ihre normale Form. Mit der Zeit wird aber die Bewegung zappelnd und zuckend, so daß sie nicht mehr von der Stelle kommen, die Peristomlänge nimmt annähernd proportional der Größenverringerung ab und verkümmert schließlich, die Färbung geht zurück bis zur völligen Farblosigkeit und die Form spitzt sich vorn und hinten zu. Am Ende gehen die Tiere bei einer minimalen Größe ein (Fig. 13).

Diese Hungerformen entstehen bei bestimmten Bedingungen, nämlich in absolut sauberen Kulturen, aus denen jeder Nahrungs- und Detritusrest sorgfältig entfernt werden muß, anderenfalls kommt es zur Bildung der obenerwähnten Depressionsformen. Zu diesen Versuchen wurden daher reichhaltige Massenkulturen in frische Nährlösung ohne Futter übertragen. Die vorhandenen Fremdkörper sammeln sich dann alle auf dem Boden des Gefäßes an und können mit einer

groben Pipette gut entfernt werden. Wegen der oft großen Mengen der daran haftenden Tiere kann man, um Material zu sparen, die abgenommene Masse noch ein- oder zweimal in frischer Nährlösung aufschwemmen, wobei jedesmal ein Teil der Infusorien wieder herausfällt und für Hungerkulturen brauchbar wird. Frisch übertragen nähren sich die Tiere noch kurze Zeit von den in der Nährlösung vorhandenen Bakterien, die aber je nach der Reichhaltigkeit der Kultur schnell verbraucht sind. Dann sind sie darauf angewiesen, sich von ihrer eigenen Substanz zu ernähren.

Es wurde nun zuerst versucht, an einzelnen Tieren festzustellen, wie weit das Volumen zurückgehen kann, ohne daß das Tier die Fähigkeit zum Wiederanwachsen verliert. Zu diesem Zweck wurden im Laufe der Zeit 200 einzelne Stücke in hohlgeschliffene Objektträger mit frischer Nährlösung und gereinigtem Futter gebracht. Von diesen Tieren ging ein großer Teil, nämlich 55 Proz., sofort ein, vermutlich weil durch den Hunger die Tiere so empfindlich sind, daß sie das Umsetzen in die andere Lösung nicht mehr vertragen. Die Größenmessungen wurden an lebenden Tieren vorgenommen, was dadurch möglich ist, daß die verhungerten Tiere an Beweglichkeit sehr verloren haben. Geprüft wurden vor allem solche Stadien, die auf der Grenze des Wiederanwachsens liegen, die sich ja bald feststellen ließ, also zwischen 90 und 130 μ. Das Ergebnis zeigt die Tabelle 1.

Fig. 13. Hungerformen von *K. flava*; von links nach rechts hungernd und wieder gefüttert, anwachsend. Fixierung und Färbung wie Fig. 3. Vergr. 1 : 800.

Daraus ergibt sich, daß Tiere, deren Länge unter 90 μ (also ca. $^1/_3$ der Maximallänge) gekommen sind, nicht mehr fähig zum Wachstum sind: sie können unter dauerndem, langsamem Rückgang noch ca. 1 Woche leben, gehen aber dann ein. Die Grenze für das Wiederanwachsen liegt zwischen 90 und 110 μ, wo schon 63 Proz.

Tabelle 1.

Anwachsen der *Keronopsis flava* nach Hunger.

Länge μ	angesetzt		eingegangen		wachsend		+	%	—	%
	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%				
70— 90	14	7	7	50	7	50	—	—	7	100
91—110	79	39,5	47	59	32	41	20	63	12	27
111—130	67	33,5	33	50	34	50	28	82	6	18
131—150	36	18	23	64	13	36	13	100	—	—
151—170	2	2	—	—	4	100	4	100	—	—
	200	100	110	55	90	45	65	72	25	28

wieder teilungsfähig werden können, der Rest von 37 Proz. aber auch zurückgeht.

Am 1. Tag in der frischen Nährlösung nehmen die Tiere bei ihrer geringen Größe wohl nur Bakterien auf und ein Längenwachstum konnte oft noch gar nicht beobachtet werden (diese Kulturen wurden alle 1—2 Tage nachgemessen). In den nächsten Tagen werden dann zunächst einzelne, später normale Mengen an *Dunaliella* gefressen. Das Anwachsen bis zur ersten Teilung geht dann verhältnismäßig sehr schnell vor sich, es dauert 6—8 Tage, bei den weniger verhungerten Individuen entsprechend kürzere Zeit. Tiere über 130 μ sind schon zu 100 Proz. regenerationsfähig und teilen sich oft schon nach 3—4 Tagen.

Der Beweis, daß diese Tiere durch die Hungerperiode in keiner Weise geschädigt wurden, ließ sich durch Haltung solcher wieder herangewachsener Tiere in Zählkulturen erbringen. In sämtlichen Reihen verhielten sich die Tiere genau so, wie die normalen auch, die Teilungsrate ist unverändert, auch Depressionserscheinungen traten während der nächsten 10 Monate, die die Kulturen geführt wurden, nicht auf.

Der umgekehrte Versuch, der vielleicht wichtiger gewesen wäre, um festzustellen, auf welche Weise die Verkleinerung der *Keronopsis* vor sich geht, nämlich einzelne Stücke langsam verhungern zu lassen, hat sich leider nicht machen lassen. In hohlgeschliffenen Objektträgern mit frischer Nährlösung ohne Futteralgen findet ein einzelnes Tier immer noch genug Bakterien, um damit sogar wieder zur Teilung kommen, von Hungern ist also nicht die Rede. Um die Bakterien zu entfernen, wurde versucht, mit gekochter Lösung zu arbeiten, in der aber die Tiere immer wieder eingingen. Ebenfalls gingen sie ein in normaler Lösung, die mit Durchsaugen durch eine Berkefeld-Kerze bakterienfrei gemacht und bis zum Gebrauch im Eisschrank aufgehoben wurde, so daß sich keine Keime entwickeln konnten.

Es wurde daher von diesen Versuchen abgesehen und zur cytologischen Prüfung der Hungerformen nur mit Massenkulturen gearbeitet.

An Hand von solchen Präparaten wurde nun auch geprüft, wie die Verkleinerung der einzelnen Individuen vor sich geht. Denkbar wären zwei Möglichkeiten: a) die Tiere teilen sich auch ohne Nahrung auf Kosten ihrer Größe immer weiter und geraten schließlich so an die untere Grenze, die für ein späteres Wiederanwachsen nötig ist. Ein Parallelfall würde bei *Eudorina* vorliegen, die sich bei zu starker Beleuchtung innerhalb einer bestimmten Frist auf Kosten ihrer Körpersubstanz zu Tode teilt; b) die Tiere stellen mit dem Aufhören der Ernährung zwar ihre Teilungen ein, sind aber doch bald gezwungen, nach Verbrauch ihrer Reservestoffe ihre Körpersubstanz anzugreifen.

Fig. 14.
Ma aus Hungertieren; Mitosen einzelner Mi aus Hungerformen. Fixierung nach Flemming, Färbung nach Feulgen. Vergr. 1 : 2500.

Nach Präparaten von extrem verhungerten Tieren ist, abgesehen von der Größe, die Anzahl der Ma und Mi erheblich zurückgegangen, so daß man in sehr kleinen Tieren oft nur noch einen Mi, in seltenen Fällen sogar gar keinen mehr findet, während die Anzahl der Ma unter zehn gehen kann. Das Verhältnis zwischen Mi und Ma, das normal verhältnismäßig regelmäßig 1 : 10 ist, wird unregelmäßig, es kommen Tiere mit 1 : 5, 1 : 12, 1 : 8 usw. vor. Außerdem findet man, je weiter die Anzahl der Mi von sechs zurückgeht, in den Tieren Mitosen einzelner Mi, ohne daß dieses an sich irgendwie den Eindruck einer vegetativen Teilung machen würde: das Peristom ist vollkommen normal, die Ma zeigen keine Konzentration oder auch nur stärkere Färbbarkeit, und die übrigen Mi sind unverändert in Ruhe. In stark verhungerten Kulturen zeigen oft bis zu 50 Proz. der Tiere solche Mitosen einzelner Mi, und zwar befinden sich die Kerne immer im Stadium der Prophase oder der frühen Metaphase, spätere Stadien habe ich nie beobachtet (Fig. 13, 14).

Trotz all dieser Tatsachen, die gegen eine normale Teilung sprechen, ließe sich aber ja annehmen, daß es im Hunger zu abnormalen Teilungen der *Koronopsis*-Zelle kommt, ohne daß sich vorher die ganzen Mi und Ma verdoppeln würden, auch das Peristom könnte vielleicht später regeneriert werden. Da sich aber weder in den lebenden Kulturen noch in den Präparaten (es wurden mit der Zeit

an 3000 Hungertiere durchgesehen) niemals auch nur eine Andeutung einer solchen Zelldurchschnürung zeigte, muß angenommen werden, daß der zweite Fall der möglichen Verkleinerung hier verwirklicht ist.

Diese Tatsache bekräftigen auch die Präparate, die von Hungertieren in zwei Reihen angefertigt wurden: 1. Eine normal gefütterte Kultur wurde gereinigt, hungern gelassen und im Laufe der folgenden 30 Tage alle 5 Tage ein Präparat gemacht; 2. eine Kultur, die über 3 Wochen gehungert hatte, wurde wieder gefüttert (noch weiter verhungerte Kulturen zu nehmen, wäre unzweckmäßig gewesen, weil dann nur ein zu geringer Prozentsatz der Tiere wieder anwächst!) und an mehreren Tagen hintereinander Präparate gemacht. Sämtliche Präparate wurden gleichmäßig fixiert und gefärbt und dann die durchschnittliche Länge, die Anzahl der Mi und später die Korrelation zwischen beiden festgestellt. Die Resultate zeigt die Tabelle 2. Daraus ergibt sich nun folgendes Bild: Im ersten Präparat der ersten Reihe fehlt jede Korrelation, da es sich ja um Normaltiere handelt. Der Mittelwert der Körpergröße ist 167 μ fixiert, der für die Kernzahl 6,165 $\pm$ 0,242. In den nächsten 20 Hungertagen (Präparat 2—5) zeigt sich ein langsames, stetes Absinken der Körpergröße bis auf 71 $\mu \pm 12\,\mu$. Die Kernzahl schwankt in den ersten 10 Tagen leicht und geht dann erst langsam zurück. Nach diesen 20 Tagen ist der Durchschnitt der Tiere in der Kultur auf dem Punkt angekommen, von wo aus noch regeneriert werden kann, nämlich bei einer Größe von ca. 100 μ lebend. Nun kommt der Größenverlust zu einem Stillstand, ja nach Präparat 6 ist der Mittelwert für die Körperlänge sogar wieder etwas größer, doch sind die Unterschiede statistisch nicht gesichert. Die Kernzahl sinkt auch um diese Zeit stetig, aber schwach. Es scheint, als ob erst, wenn während dieses Stillstandes die Kultur nicht wieder neu gefüttert wird, der endgültige, steile Abfall erfolgt, denn erst jetzt sinken Länge und auch die Anzahl der Mi vollkommen ab auf 63 $\mu \pm 12\,\mu$ bzw. 3,975 $\pm$ 0,724.

Die Korrelation zwischen der Länge und den Mi steigt mit der Dauer des Hungers bis zu 15 Tagen sehr regelmäßig bis auf 0,615 $\pm$ 0,044. In den nächsten 10 Tagen kommt es auch hier zu einem Rückschlag, die Korrelation schwankt, um dann erst am 30. Tage ihren höchsten Punkt in dieser Reihe, mit 0,866 $\pm$ 0,017 zu erreichen. Je geringer also die Länge der Hungertiere, desto größer ist die Korrelation mit der Anzahl der Mi (Tab. 21).

In der zweiten Reihe wurde das Verhalten der *Keronopsis* während des Wiederanwachsens geprüft. In der hungernden Ausgangskultur war der Mittelwert für die Länge 79 $\mu \pm 12\,\mu$ und

Tabelle 2.

Reihe I, absteigend.

Kult. Nr.	Anzahl der Messungen	Var.breite	Körpergröße Mittelwert	Streuung	Var.koeff.	Micronucleusanzahl Var.br.	Mittelwert	Streuung	Var.koeff.	Korrel.koeff. Größe u. Kernz.	Mittlere Differenz
I 1	200	127—200 μ	167 μ ± 6	1,054	11,471	5—8	6,165 ± 0,242	0,600	9,732	0,027 ± 0,065	0,093
I 2	200	92—200 „	147 „ ± 8	1,204	15,127	5—8	6,095 ± 0,227	0,561	9,208	0,283 ± 0,066	0,087
I 3	200	57—173 „	122 „ ± 8	1,210	17,979	4—8	6,105 ± 0,282	0,696	11,407	0,458 ± 0,056	0,071
I 4	200	38—164 „	94 „ ± 9	1,181	22,735	3—8	6,815 ± 0,403	0,972	16,717	0,615 ± 0,044	0,070
I 5	200	21—145 „	71 „ ± 12	1,327	34,105	3—8	5,660 ± 0,337	0,896	14,439	0,477 ± 0,054	0,075
I 6	200	21—145 „	78 „ ± 8	0,959	29,360	2—7	5,310 ± 0,550	1,270	18,055	0,521 ± 0,052	0,054
I 7	200	11—109 „	63 „ ± 12	1,198	34,772	1—7	3,975 ± 0,724	1,444	36,324	0,866 ± 0,017	

Reihe II, aufsteigend.

Kult. Nr.	Anzahl der Messungen	Var.breite	Körpergröße Mittelwert	Streuung	Var.koeff.	Micronucleusanzahl Var.br.	Mittelwert	Streuung	Var.koeff.	Korrel.koeff. Größe u. Kernz.	Mittlere Differenz
II 1	300	1—145 μ	79 μ ± 12	1,229	28,248	2—8	4,950 ± 0,552	1,343	27,127	0,758 ± 0,025	0,034
II 2	300	11—145 „	72 „ ± 10	1,066	26,902	2—8	5,130 ± 0,550	1,256	24,477	0,743 ± 0,023	0,031
II 3	300	11—164 „	94 „ ± 11	1,194	23,179	1—8	5,800 ± 0,526	1,126	19,405	0,797 ± 0,021	0,046
II 4	300	11—164 „	100 „ ± 10	1,266	22,870	2—8	5,867 ± 0,432	1,046	17,823	0,535 ± 0,041	0,062
II 5	146	38—200 „	112 „ ± 12	1,674	27,211	3—8	5,925 ± 0,415	1,021	17,052	0,659 ± 0,047	

würde so im Leben einer Größe von 90—110 μ entsprechen; für die Kernzahl 4,95 $\pm$ 0,025. Am 1. Tage nach der Fütterung ist die Länge noch mehr abgesunken, weil die Tiere zuerst noch so schwach fressen, daß kein Wachstum eintreten kann. Dann steigen Länge und Kernzahl langsam und stetig an. Wenn der Mittelwert für die Länge der am meisten ausgewachsenen Kultur (Präparat 5) nur 112 $\mu \pm 12\,\mu$ fixiert beträgt, so liegt das daran, daß in diesen heranwachsenden Kulturen ja immer solche Tiere mitgezählt werden, die zur Zeit der ersten Fütterung schon unter der Grenze des Wiederanwachsens liegen und nun, während die größeren allmählich regenerieren, langsam zugrunde gehen. Deswegen verhält sich auch der Korrelationskoeffizient in dieser Reihe anders, als man nach den Resultaten der ersten Reihe hätte erwarten sollen: in den ersten Tagen ist er nicht nachweisbar verändert und sinkt dann erst vom 4. Tage ab. Das Wiederansteigen am 5. Tage ist nicht gesichert (Tab. 2II).

Weitere Kulturen wurden nicht fixiert, weil ein erheblicher Teil der Tiere sich im fünften Präparat schon wieder normal teilte. Nach wenigen weiteren Tagen würden die absteigenden Tiere alle abgestorben sein und die Korrelation auch hier wieder ihren normalen Stand, nämlich 0, erreicht haben.

Aus den beiden Versuchsreihen geht also auch hervor, daß es sich bei den Hungerformen nur um Tiere handeln kann, die kontinuierlich an Plasma- und später auch an Kernsubstanz verloren haben. Auf welche Weise der Verbrauch der chromatischen Substanz vor sich geht, läßt sich leider nicht einwandfrei erschließen, da nach den Präparaten die Ma sowohl als auch die Mi der Hungertiere ein vollkommen normales Aussehen haben. Sicher ist nur, daß die Kerne erst dann angegriffen werden, wenn sich die Plasmamasse nicht weiter verringern läßt, dann aber geht der Verlust proportional. Der Rückgang der Ma ließe sich so erklären, daß einzelne der Brocken, denen ja sowieso die feste Form fehlt, immer mehr resorbiert und damit winziger werden und schließlich ganz verschwinden (Fig. 14). Schwieriger ist es mit dem Verlust der Mi, die auch, wenn sie überhaupt vorhanden sind, in den kleinsten Hungertieren ihre normale Form zeigen und sich in Größe, Färbbarkeit und scharfen Konturen in keiner Weise von normalen unterscheiden. Möglich wäre nur, daß während der schon erwähnten, an recht verhungerten Tieren häufigen Einzelmitosen die Mi die Teilung tatsächlich nicht mehr fertig bringen, sondern in diesem Zustand angreifbar werden und sich auflösen. Das müßte dann im Stadium der späten Meta- bzw.

Anaphase geschehen. Dafür würde sprechen, daß gerade diese späteren Phasen bei diesen unregelmäßigen Teilungen niemals gefunden wurden.

Wesentlich einfacher liegen die Dinge bei den wiederanwachsenden Tieren. Nach den Statistiken setzt ja der eigentliche große Kernverlust erst ein, wenn die Tiere unrettbar verloren sind, und der Gewinn an Mi beträgt in der zweiten Reihe vom 1.—5. Präparat nur ein Mi im Durchschnitt, entsprechend viele Ma wären zu regenerieren. Bei den anwachsenden Tieren werden die Mi einfach durch Mitosen einzelner Kerne ersetzt, auch fehlende Ma gehen einfach aus Durchschnürungen der vorhandenen hervor (Fig. 15). In Präparaten anwachsender Kulturen findet man häufig solche einzelnen, sehr langgestreckten oder auch kleinere, aber hantelförmige Ma. Sie sind weniger gut färbbar als bei normalen vegetativen Teilungen, es fehlen ihnen aber auch die vielen Vakuolen und Granula der Ruhephase.

Fig. 15. Ma aus wiederanwachsenden *K. flava*. Fixierung und Färbung wie Fig. 3. Vergr. 1:2500.

Diese charakteristischen Hungerformen der *flava* lassen sich bei der *flavicans* nicht erzeugen. Diese wird wohl im Hunger mit der Zeit etwas kleiner, geht dann aber, völlig farblos geworden, plötzlich ein. Aus dem Vergleich des Verhaltens bei Hunger bei den beiden vorliegenden Formen geht hervor, daß die Schlüsse, die von Alleschер, 1912 in bezug auf die Möglichkeit der Zellverkleinerung verschiedener Infusorien in Verbindung mit ihren kompakten oder mehr verteilten Ma (*Paramaecium*, *Stentor* und *Dileptus*) gezogen worden sind, nicht stimmen können. Denn die Berührungsfläche der Ma mit dem Plasma ist bei *flavicans* noch größer als bei *flava*, trotzdem bildet nur *flava* regelrechte Hungerformen, während *flavicans* einfach eingeht, ohne die Größe sonderlich zu verringern. Damit sind auch die Folgerungen, die auf diese Versuche hin an die Wechselwirkung zwischen Kern (Ma) und Plasma geknüpft werden, hinfällig.

Zusammenfassung.

1. Untersucht wurden zwei Infusorienarten: *Keronopsis flava* und *flavicans*, deren Morphologie kurz beschrieben wird.

2. Der Kernapparat der *K. flava* besteht aus 5—8 Micronuclei und ca. 50—80 voneinander getrennten Macronuclei, der der *flavicans* aus 8—10 Micro- und ca. 200 Macronuclei.

3. Bei der Teilung konzentrieren sich bei beiden Arten die Ma unter dem Peristomgrund und wandern mit diesem während der Teilung durch beide Tiere. Jeder Ma teilt sich hantelförmig in zwei Hälften, die dann auf die beiden Tochtertiere verteilt werden. Dazu erhält jedes Tochtertier die Hälfte der Mi. Die Mi beider Arten haben acht sehr lange, dünne Chromosomen.

4. Versuche über die Teilungsrate: als optimales Nährmedium wurde Nordsee-Erdschreiber, als optimale Temperatur 20—21° festgestellt, als Futter diente *Dunaliella*. Unter diesen Bedingungen wurde *K. flava* 12, *K. flavicans* 10 Monate in Kultur gehalten und vermehrten sich die ganze Zeit über vegetativ, ohne daß Depressionen auftraten. Weiterhin wurde die Teilungsrate in über- und unterkonzentrierten Lösungen sowie bei verschiedenen Temperaturen geprüft. Dabei ergab sich für *K. flava* eine verhältnismäßig sehr große Lebensbreite, während sich *K. flavicans* als sehr empfindlich erwies.

5. Auslösung von Cystenbildung und Konjugation war nicht möglich. Konjugation trat nur spontan zweimal bei der *K. flavicans* auf. Bei der *K. flava* konnten dagegen typische Hungerformen erzeugt werden, die von einer bestimmten Mittellänge wieder anwachsen können, wenn sie wieder gefüttert werden, sonst aber immer kleiner werden und schließlich eingehen. Bei diesen Hungerformen wurde das Verhalten der Mi und Ma geprüft.

Literaturverzeichnis.

Alleschер, M. (1912): Über den Einfluß der Gestalt des Kernes auf die Größenabnahme hungernder Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 27.

Beers, C. D. (1926): The life cycle in the ciliate Didinium nasutum, with reference to encystment. Journ. of Morph. Vol. 4.

Bělař, K. (1922 u. 1924): Untersuchungen über den Formwechsel bei Actinophrys sol Ehrbg. I. Die Morphologie des Formwechsels. Arch. f. Protistenk. Bd. 46. II. Beiträge zur Physiologie des Formwechsels. Ibid. Bd. 48.

— (1926): Der Formwechsel der Protistenkerne. Ergebn. u. Fortschr. d. Zool. Bd. 6.

Calkins, Gary N. (1919): Uroleptus mobilis Engelm. Journ. of Morph. Vol. 27.

Chejfec, N. (1930): Die Lebensdauer von Paramaecium caudatum in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge. Ref. Berichte über die ges. Biol. Bd. 15 p. 538.

Entz, G. (1884): Über die Infusorien des Golfes von Neapel. Mitth. a. d. zool. Station zu Neapel Bd. 5 H. 3 u. 4.

Fortner, H. (1933): Die funktionelle Teilungsphase der Zelle. Biologia generalis Bd. 9.

Gruber, A. (1884): Über Kern und Kerntheilung bei den Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 40.

— (1887): Weitere Beobachtungen an vielkernigen Infusorien. Ber. d. naturf. Ges. zu Freiburg Bd. 3 H. 1.

Hartmann, M. (1921): Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonadinen (Volvocales). III. Mitteilung: Die dauernd agame Zucht von Eudorina elegans, experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todproblem. Arch. f. Protistenk. Bd. 43.

— (1924): Der Ersatz der Fortpflanzung von Amöben durch fortgesetzte Regeneration. Ibid. Bd. 49.

Joseph, H. (1907): Beobachtungen über die Kernverhältnisse bei Loxodes rostrum M. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

Hertwig, R. (1904): Conjugation in Dileptus gigas. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. und Physiol. Bd. 20.

Lebedeff, W. (1909): Über Trachelocerca phoenicopterus. Arch. f. Protistenk. Bd. 13.

Maupas, E. (1889): Le rajeunissement karyogamique chez les ciliés. Arch. de Zool. expér. et gen. T. 7 Série 2.

Studitsky, Alex N. (1930): Material zur Morphologie von Dileptus gigas Stein. Arch. f. Protistenk. Bd. 70.

Visscher, J. P. (1927): Conjugation in the ciliated Protozoon, Dileptus gigas, with special reference to the nuclear phenomena. Journ. of Morph. and Phys. Vol. 44.

Weyer, G. (1930): Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Gastrostyla Steinii Engelm. Arch. f. Protistenk. Bd. 71.

Lebenslauf.

Ich, Traud Rühmekorf, bin geboren am 6. Dezember 1904 als Tochter des Gutsbesitzers Otto Rühmekorf und seiner Frau Hedwig, geb. Hüttmann, in Gräberkathe in Holstein. Die beiden ersten Schuljahre wurde ich privat unterrichtet, von 1913—1921 besuchte ich das Lyzeum am Falkenplatz in Lübeck. Die Reifeprüfung machte ich im Herbst 1928 als Extraneerin an der Auguste-Viktoria-schule in Berlin-Steglitz (Oberlyzeum der Oberrealschulrichtung).

Im Wintersemester 1928/29 studierte ich zunächst in Berlin, ging dann je ein Semester nach Graz und München und später wieder zurück nach Berlin. Meine Lehrer waren die Herren Professoren Dr. M. Hartmann, R. Hesse, K. Noack und Diels in Berlin, Prof. Dr. Linsbauer und F. Weber in Graz, Prof. Dr. v. Frisch, Döderlein, v. Goebel und Wieland in München. Im Mai 1931 begann ich am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Hartmann mit einer Doktorarbeit. Diese vorliegende Arbeit wurde abgeschlossen im Mai 1934.